



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2010
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/31-1/2020 (č. 1144)

**Detekce papillomavirů
amplifikačně**

Praha, listopad 2020

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Příprava vzorků	4
3. Hodnocení	4
4. Závěr	6

Program zkoušení způsobilosti PT#M/31-1/2020 byl zaměřen na detekci papillomavirů. Návrh a realizace PT#M/31/2020 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/31 na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti (ESPT) Státního zdravotního ústavu (SZÚ). Toto pracoviště je akreditováno Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. jako poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Příloha závěrečné zprávy, tj. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

**Koordinátor:**

MUDr. Barbora Macková

Tel: 267 082 101

Zprávu vypracoval:

RNDr. Ruth Tachezy, PhD. (NRL pro papillomaviry a polyomaviry, Praha)

Zprávu schválil: MUDr. Barbora Macková**Dne: 27. 11. 2020****Pracoviště 2 ESPT**<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení

Identifikace cyklu:	EHK 1144
Název PT:	PT#M/31-1/2020 Detekce papillomavirů
Poskytovatel:	ESPT, Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00
Vedoucí:	Ing. Vrbíková
Subdodavatel a činnosti, které zajišťuje:	Národní referenční laboratoř pro papillomaviry a polyomaviry v Ústavu hematologie a krevní transfuze (UHKT), Odd. imunologie, U Nemocnice 1, 128 20 Praha 2 zajišťuje přípravu a zabezpečuje jakost vzorků.
Podstata a účel PT:	Ověřit schopnost účastníků EHK identifikovat přítomnost nukleových kyselin lidských papillomavirů (HPV) a určit skupinové případně genotypové zařazení detekovaných HPV.
Kritéria pro účast na PT:	Diagnostika HPV
Charakteristika materiálu:	Lyofilizovaný materiál
Hodnocené ukazatele:	Identifikovat přítomnost nukleových kyselin HPV a určit skupinové zařazení a případně genotyp detekovaných HPV.
Způsob přípravy:	Viz SOP M/31
Množství připraveného test. materiálu:	45 sad
Označení vzorkovnic:	EHK 1144, PT#M/31-1, č. 1 – č. 5, 15. 9. 2020
Zabezpečení jakosti vzorku (včetně termínů testů homogenity a stability):	Manipulace se vzorky za sterilních podmínek a příprava vzorků v místnosti vyhrazené pro preamplifikační fázi, testy homogenity a stability před a po lyofilizaci 29. 6. 2020, 20. 8. 2020 dvěma různými operátory.
Možné zdroje analytických chyb:	Kontaminace v preanalytické či analytické fázi zpracování vzorků
Způsob vyhodnocení výsledků:	Výsledky hodnotí VŠ pracovník odpovědný za příslušný cyklus EHK. Bodové ohodnocení: za 1 vzorek max 2 body, jeden za správné určení absence či přítomnosti nízkorizikových genotypů (LR) a 1 za určení absence či přítomnosti vysokorizikových genotypů (HR) HPV. Pokud použitý diagnostický test neumožňuje detekci LR HPV, hodnotíme výsledek také dvěma body a v případě chybného výsledku či závažné chyby detekce 0 body. Maximálním možným počtem získaných bodů je 10.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Pro hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný v NRL.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Bodové hodnocení. Maximální počet bodů 10, minimální počet bodů 9 pro úspěšnou účast.
Termín distribuce:	15. 9. 2020
Způsob distribuce:	Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem se službou přeprava nebezpečného zboží dle regulí ADR pro silniční přepravu.
Informace účastníkům (např. pokyny, výsl. formuláře):	http://www.szu.cz/programy-kouseni-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore
Termín odeslání výsledků účastníky:	do 6. 10.2020 na předepsaných formulářích
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	do 10 dnů po předání výsledků k hodnocení
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	do 12 týdnů po předání výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorků

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele – v Národní referenční laboratoři pro papillomaviry a polyomaviry, v Ústavu hematologie a krevní transfuze, vedoucí: RNDr. Ruth Tachezy, PhD., v termínu od 7. 5. 2020 do 20. 8. 2020 dle SOP M/31.

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly linie lidských buněk negativních na HPV a dále linie lidských buněk obsahující některé genotypy HPV a klonovaná izolovaná virová DNK různých genotypů HPV.

Vzorky pro EHK byly připraveny jako simulované klinické vzorky odběru stěru z děložního hrdla. Na pozadí HPV negativních buněk byly i buňky obsahující HPV a klonovaná virová DNK. Vzorky jsou připraveny tak, aby obsahovaly různé genotypy (LR, HR) a různé koncentrace těchto genotypů. Vzorky byly po přípravě a rozplnění skladovány při + 4-8 °C. Jednotlivé zkumavky byly označeny štítkem s číslem a názvem cyklu EHK, číslem vzorku. Tento cyklus EHK je určen pro amplifikační metody detekce HPV, není vhodný pro vyšetření neamplifikačními metodami. Připravené vzorky v polypropylénových zkumavkách se šroubovacím víčkem byly označeny štítkem, vloženy do nepropustných sáčků a ty poté do polystyrénové krabice s chladicími vložkami. Ta byla osobně dopravena z NRL pro papillomaviry a polyomaviry do SZÚ Praha dne 16. 7. 2020 (Záznam o přijetí/předání vzorku).

V SZÚ Praha byly vzorky lyofilizovány, ze vzorků kompletovány série obsahující vždy vzorek č. 1 - 5 a přeprava vzorků byla zajištěna přepravcem dle regulí ADR pro silniční přepravu.

3.1 Hodnocení

Celkem byly dne 15. 9. 2020 v rámci PT#M/31-1/2020 - EHK-1144 (Detekce papillomavirů) rozeslány vzorky do 34 laboratoří. Vzorek 1 byl pozitivní na LR HPV 6 a HR HPV 45, vzorek 2 obsahoval HR HPV 16, vzorek 3 byl negativní na HPV, vzorek 4 obsahoval HR HPV 52 a vzorek 5 byl pozitivní na HR HPV 18.

Princip hodnocení:

Hodnocení výsledků PT#M/31-1/2020 - EHK-1144 je prováděno kvalitativně, při diskrepanci se u amplifikačních metod přihlíží i k detekčním možnostem použitých metod, pokud byly dostupné. Při hodnocení je za vyhovující hodnotu považován výsledek získaný v NRL pro papillomaviry a polyomaviry.

Bodové ohodnocení:

Za správný výsledek u 1 vzorku je možno získat max 2 body, jeden za správné určení absence či přítomnosti nízkorizikových genotypů (LR) a 1 za určení absence či přítomnosti vysokorizikových genotypů (HR) HPV. Pokud použitý diagnostický test neumožňuje detekci LR HPV, hodnotíme výsledek také dvěma body. Pokud je polovina výsledku správná hodnotíme 1 bodem a v případě chybného výsledku 0 body. Za nesprávný výsledek považujeme falešně pozitivní a falešně negativní výsledek. Pokud se jedná o HPV typy vakcinační, jsou tyto chyby považovány za závažné. Maximálním možným počtem získaných bodů je 10. Laboratořím s menším počtem bodů než 9 doporučujeme vyžádání opravné série vzorků. Laboratořím s jedním chybným výsledkem, dle závažnosti, doporučujeme přetestování daného vzorku.

Vyplněné protokoly vyšetření PT#M/31-1/2020 - EHK-1144 ke dni uzávěrky 6. 10. 2020 vrátilo 31 laboratoří. Laboratoř 329 si objednala vzorky pro neamplifikační metody, ale použila metody amplifikační, což je přípustné. Výsledky zaslala na výsledkovém listu pro EHK-1145 (neamplifikační metody).

Dvě laboratoře vyšetřily vzorky souběžně pomocí více amplifikačních metod (laboratoř 369 – 2 metody, laboratoř 736 – 3 metody). Celkem bylo hodnoceno 35 výsledkových protokolů z 32 laboratoří.

3.2 Hodnocení EHK 1144 – amplifikační metody detekce HPV

Pro amplifikační metody laboratoře použily různé dostupné diagnostické sety či „in house“ metody, které detekují skupiny či jednotlivé genotypy HPV v různém rozsahu (Tabulka 1).

Tabulka 1. Přehled testů použitých v EHK 1144 pro amplifikační metody detekce HPV.

Test	Výrobce (Distributor)	Počet laboratoří
Cobas 4800 HR HPV panel, HPV 16/18	Roche (Roche)	12
Anyplex II HPV28 Detection	Seegene	5
Anyplex II HPV HR Detection	Seegene	1
GeneXpert HPV Assay	Cepheid (Biovendor)	6
HPV Genotypes 14 Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies (Dynex)	1
HPV 14 Screening and 16,18,45 Typing Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies (Dynex)	1
HPV Easy Screening PCR	AID GMBH (Medisco)	1
PCR STD Detection Kit	GenID (Medisco)	1
AmoyDx HPV Genotyping Detection Kit	Amoy Diagnostic	1
Amplisens HPV HCR Genotype, HPV 6/11 Kit	CRIE Moskow (Ecoli SR)	2
Linear Array HPV	Roche	1
Human Papillomavirus (HPV) PCR Kit	GeneProof	3
„in house“ PCR, primery CPSGB, sekvenace		1

Výsledky vyšetření EHK 1144:

Simulované vzorky pro vyšetření přítomnosti a typizace HPV byly připraveny v lyofilizované formě. Laboratoře je před testováním rozpustily v 1 ml média kompatibilním s použitou detekční amplifikační metodou.

Vzorek 1 (LR HPV 6 pozitivní, HR HPV 45 pozitivní):

Z 11/12 laboratoří využívajících amplifikační metody detekce s detekcí LR typů HPV správně určily ve vzorku přítomnost LR HPV 6 případně LR HPV pozitivitu. Laboratoř 369 měla falešně negativní výsledek, bylo jí doporučeno přetestování vzorku. Všechny zúčastněné laboratoře v tomto vzorku správně určily přítomnost HR HPV 45 nebo deklarovaly HR HPV pozitivitu.

Vzorek 2 (HR HPV 16 pozitivní):

Všechny laboratoře správně detekovaly ve vzorku přítomnost HR HPV a pokud to testy umožňovaly byl správně určen typ HR HPV 16.

Vzorek 3 (HPV negativní):

Všechny laboratoře získaly správný výsledek HPV negativní.

Vzorek 4 (HR HPV 52 pozitivní)

33/35 laboratorních výsledků vyšetření správně identifikovalo HR HPV 52 nebo HR HPV. Jedna laboratoř (369) deklarovala falešně negativní výsledek vyšetření a jedna (554) v tomto vzorku detekovala falešnou pozitivitu na další typ HR HPV 33. Laboratoři 369 byla doporučena opravná série a laboratoři 554 přetestování vzorku.

Vzorek 5 (HR HPV 18 pozitivní)

Všechny laboratoře správně určily vzorek jako HR HPV pozitivní nebo detekovaly typ HPV 18.

Přehled všech výsledků vyšetření amplifikačními metodami je uveden v přehledové tabulce v Příloze Závěrečné zprávy pro PT#M/31-1/2020 (Souhrn výsledků EHK 1144), která je nedílnou součástí této zprávy.

4. Závěr

Z 34 přihlášených laboratoří v rámci PT#M/31-1/2020 - EHK-1144 Detekce papillomavirů 31 laboratoří vrátilo výsledkové protokoly. Do hodnocení byly zahrnuty i výsledky laboratoře 329, která cyklus EHK-1145 vyšetřila amplifikačními metodami. Celkem bylo hodnoceno 35 výsledkových protokolů. 30 laboratoří vyšetřilo vzorky správně podle očekávaných výsledků se ziskem 10 bodů.

Laboratoř 554 měla falešně pozitivní výsledek při vyšetření vzorku č. 4 a to pro typ HPV 33, který v tomto cyklu EHK nebyl v žádném vzorku deklarován. Bylo jí doporučeno přetestování vzorku. Laboratoř 369 použila dvě amplifikační metody vyšetření. V jedné metodě získala 8 bodů (falešná negativita pro HR HPV vzorku č. 4). Vzhledem k bodovému zisku a k tomu, že stejnou metodu vyšetření se správným výsledkem použilo v tomto cyklu 11 dalších laboratoří, doporučujeme opravnou sérii. Za druhou metodou vyšetření tato laboratoř dostala 9 bodů (falešná negativita pro LR HPV vzorku č. 1) a bylo doporučeno přetestování vzorku.

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte prosím dle reklamačního řádu.

Laboratoř, která neuspěla, může **do 14 dnů** po odeslání výsledků požádat cestou koordinačního pracoviště ESPT 2 o opravnou sérii (telefonicky, e-mailem).